

タンパク質消化物の分析（１）

タンパク質のキャラクタリゼーション法として、オンラインあるいはオフラインで酵素消化を行い、消化物をイオントラップ型LC/MSで分析し、データベース検索を行うのが簡便な方法です。

イオントラップには通常のMSモードとAuto MS/MSモードがありますが、ここでは、牛血清アルブミン（BSA）のトリプシン消化物をMSモードで分析し、データベース検索した結果を示します。データベース検索はMASCOT (<http://www.matrixscience.com>)のPeptide Mass Fingerprintを用いました。

BSAをトップスコアーでヒットすることができました。

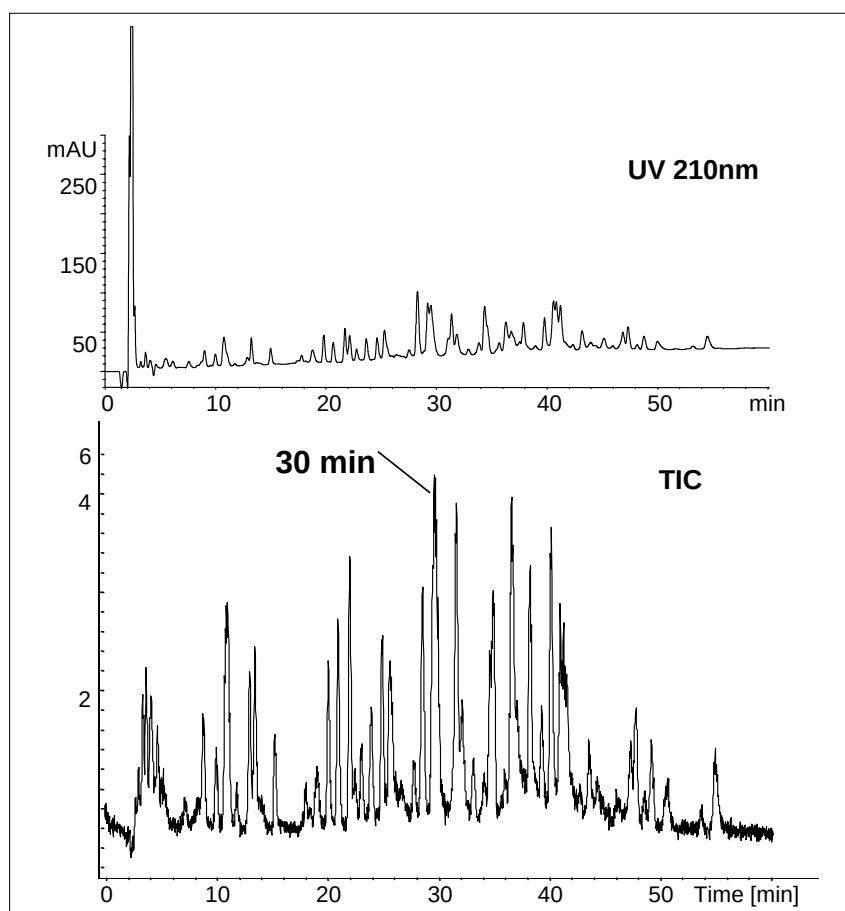


Fig.1 HPLC chromatogram and TIC of digested BSA (8pmol/μL)

Table 1 HPLC and MSD conditions

HPLC		MS	
Instrument	: Agilent 1100 Capillary system Capillary Pump Column Thermostat Micro Autosampler Diode Array Detector	Instrument	: Agilent 1100MSD Trap
Column	: Zorbax SB C18 (3.5μm, 0.3 × 150mm)	Mass range	: 350 ~ 2000 (m/z)
Mobile phase	: A : 0.05% TFA B : CH ₃ CN (0.05% TFA)	Ionization	: ESI
Gradient	: B (5%) – (40%) – (80%) – (80%) 0min – 60min – 61min – 75min	Nebulizer	: N ₂ (40 psi)
Flow rate	: 5 μl/min	Drying gas	: N ₂ (8 L/min, 300 °C)
Oven temp.	: 40 °C	Polarity	: Positive
Injection vol.	: 0.2μl	Capillary exit	: 95V
Sample	: Digested BSA ¹⁾	Mode	: MS
		Auto MS/MS	: 400 ~ 800 (m/z)

1) Albumin Bovine Reduced Carboxy-methylated was digested with Trypsin

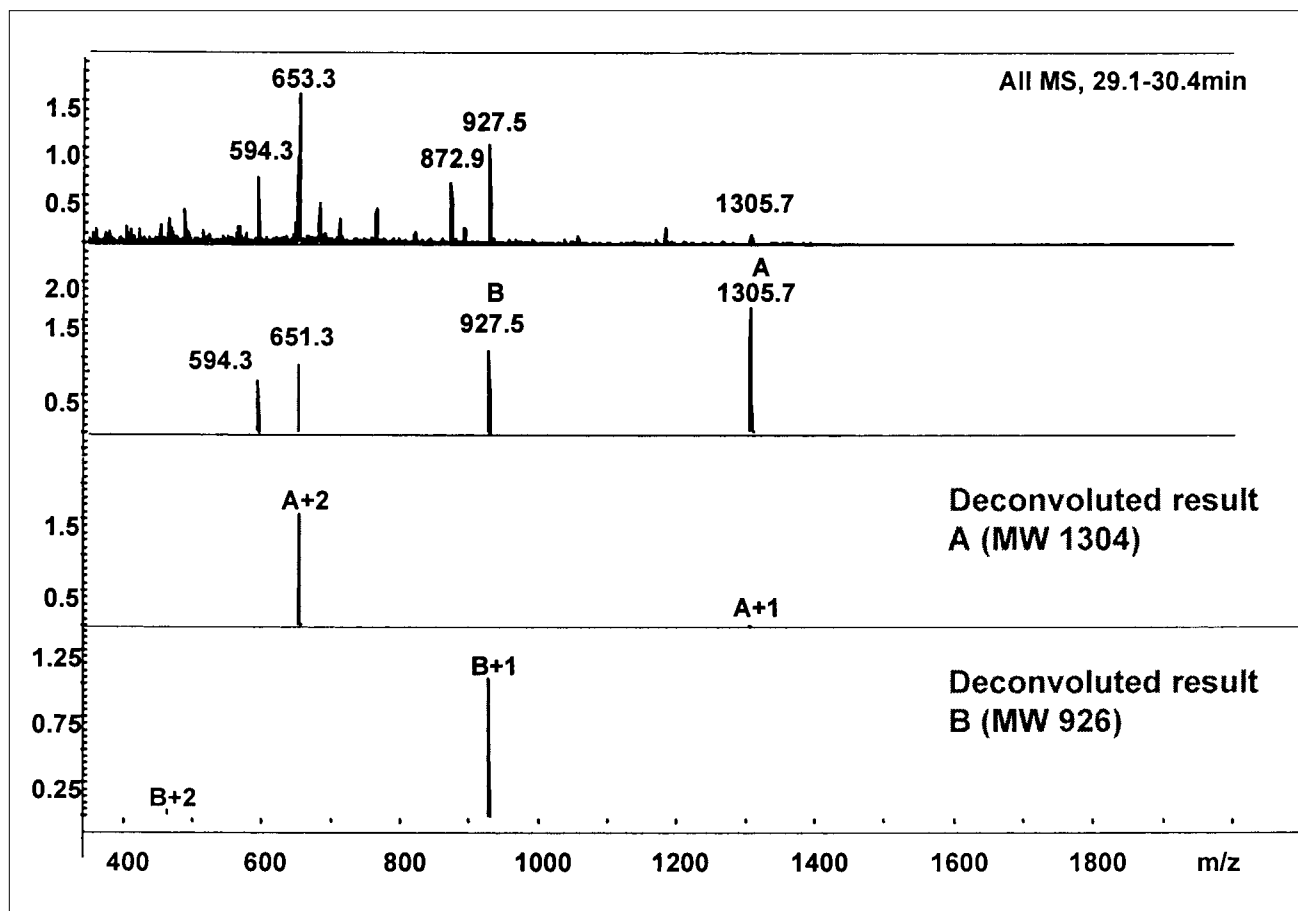


Fig.2 Mass spectrum and Deconvoluted results of 30 min peak

Mascot: Peptide Mass Fingerprint

Your name: NAOTO SHIMIZU Email: naoto.shimizu@agilent.com

Search title: []

Database: OWL

Taxonomy: All entries

Enzyme: Trypsin

Allow up to: 7 missed cleavages

Fixed modifications: Carbamidomethyl (C)

Variable modifications: Acetyl (N-term), Carbonyl (N-term), Carbonyl (N-term), Carbonyl (N-term), Carbonyl (N-term), Carbonyl (N-term), Carbonyl (N-term), Carbonyl (N-term)

Protein mass: 100 kDa

Peptide tol: ±

Mass values: MH⁺, CM, Monoisotopic, Average

Data file: C:\Program Files\Biosoft\Dalton\ [Browse...]

Query: NB Contents of this field are ignored if a data file is specified.

Report top: 5 hits

Start Search

Reset Form

The data file in PC is automatically searched with MASCOT

Fig.3 MASCOT Entry panel for the Peptide Mass Fingerprint

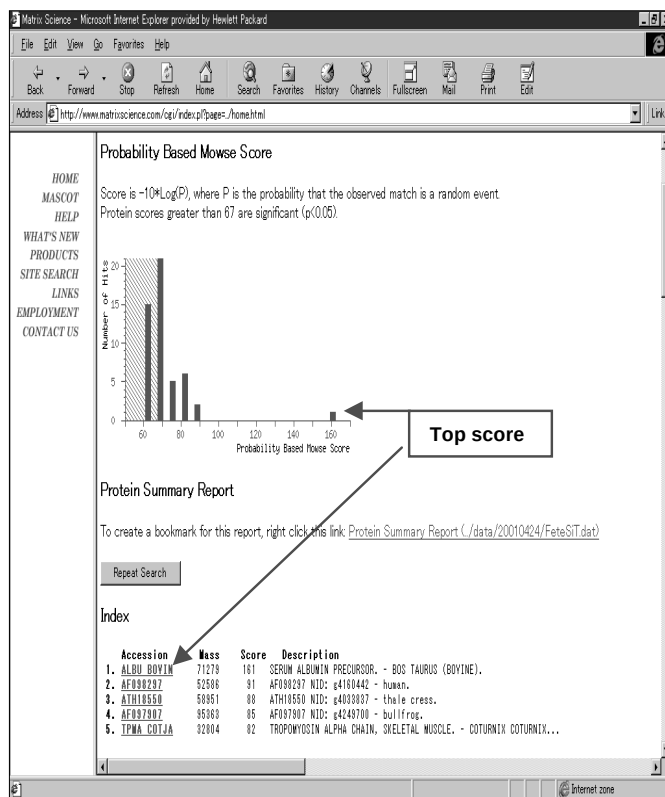


Fig.4 MASCOT search result (Index) of the digested BSA